



KM71 感受态细胞

KM71 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1655

感受态组成	保存	规格
KM71 Chemically Competent Cell	-80℃ (6 个月)	100μl×10 支
酵母促转化剂	-20℃ (12 个月)	50μl
毕赤酵母转化液	-20℃ (24 个月)	5ml

产品介绍:

KM71 毕赤酵母自身表型为 MutS, 所以 KM71 转化株只能产生出 His+MutS 菌株。KM71 毕赤酵母是组氨酸缺陷型(His4 基因型), 如果表达载体上携带有组氨酸基因, 可补偿宿主菌的组氨酸缺陷, 因此可以在不含组氨酸的培养基上筛选转化子。这些受体菌自发突变为组氨酸野生型的概率一般低于 10⁻⁸。

KM71 是毕赤酵母菌株, 属于真核细胞。一般的针对原核生物的抗生素例如卡那和氨苄对酵母是无效的, 因此为了防止大肠杆菌等原核生物对酵母培养菌株污染, 往往会在培养基中加入一些氨苄和卡那霉素的抗生素, 来抑制细菌菌的污染和生长。可以在 YPD 培养基中生长, 或者在补充有组氨酸的 minimal media 中生长, 但是无法在单独的 minimal media 培养基中生长。毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30℃, 一般可以设置在 30℃培养, 温度超过 32℃对蛋白的表达是有害的, 并可能导致细胞的死亡。

基因型: arg4 his4 aox1::ARG4; 表型: MutS, Arg+

操作方法:

1. 取需转化质粒 5μg, 酶切, 回收;
2. 取一支无菌的 1.5ml EP 管, 依次加入预冷的线性质粒 1-5μg(体积不高于 15μl), 酵母促转化剂 5μl, 100μl 冰上融化的 KM71 感受态细胞, 毕赤酵母转化液 500μl, 轻轻翻转混匀 6-8 次。
3. 30℃水浴 30min, 每 15min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
4. 每支加入 20μl 的二甲基亚砷(用于提高转化效率, 也可不做)。
5. 42℃水浴 15min, 每 7.5min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
6. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 每支加 1ml 的 YPG Plus(或 YPG)于 30℃复苏 1h(用于提高转化效率, 也可不做)。
7. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 用 100μl 0.9% NaCl 重悬, 涂板, 30℃培养 3-7d。

注意事项:

1. 使用酵母促转化剂前, 请把装有酵母促转化剂的管子在沸水中煮沸 5min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20℃储存备用。
2. 转化液低温环境下会析出, 请于常温下完全溶解后使用。
3. 转化全程要无菌操作。
4. 12000rpm 瞬时离心指离心速度升到 12000rpm 时立即停止离心。